抗吡虫啉棉蚜对其他新烟碱类药剂的交互抗性及相关酶的活性变化

史晓斌[1]，石绪根[1]，王红艳[2]，夏晓明[2]，王开运[1,*]

（1. 山东农业大学植物保护学院，山东泰安 271018；2. 山东省农业科学院棉花研究中心，济南 250100）

摘要：为明确抗吡虫啉棉蚜 *Aphis gossypii* 对其他新烟碱药剂交互抗性及相关酶活性的变化，本研究以室内筛选的棉蚜吡虫啉抗性种群、山东夏津县田间多抗种群和敏感种群为材料，采用生测法测定了这 3 种不同抗性种群棉蚜对呋虫胺和烯啶虫胺的交互抗性，以及 3 种解毒酶抑制剂对吡虫啉等药剂的增效作用，采用生化分析法测定了这 3 个种群棉蚜解毒酶及乙酰胆碱酯酶的活性和药剂的抑制作用。结果表明：吡虫啉抗性种群、夏津田间多抗种群的棉蚜对呋虫胺均无交互抗性，但对烯啶虫胺的交互抗性分别达 5.28 和 4.89 倍。呋虫胺对抗吡虫啉棉蚜的羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶及谷胱甘肽-S-转移酶都有显著的抑制作用；烯啶虫胺对抗吡虫啉棉蚜的羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶及谷胱甘肽-S-转移酶的抑制作用较小。羧酸酯酶抑制剂 TPP 和多功能氧化酶抑制剂 PBO 对吡虫啉和烯啶虫胺都有明显的增效作用，但对呋虫胺的增效作用不明显；谷胱甘肽-S-转移酶抑制剂 DEM 对 3 种药剂均没有明显的增效作用。呋虫胺和烯啶虫胺都可以抑制抗吡虫啉棉蚜的解毒酶及乙酰胆碱酯酶，其中以呋虫胺的抑制效果较为显著。结果显示呋虫胺在抗吡虫啉棉蚜治理中的应用价值较大，其结构可为今后新烟碱类药剂的开发提供参考。

关键词：棉蚜；吡虫啉；呋虫胺；烯啶虫胺；交互抗性；抗性机理

中图分类号：Q965.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2011)09-1027-07

Cross-resistance of the imidacloprid-resistant population of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) to other neonicotinoid insecticides and changes in activities of related enzymes

SHI Xiao-Bin[1], SHI Xu-Gen[1], WANG Hong-Yan[2], XIA Xiao-Ming[2], WANG Kai-Yun[1,*] (1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Cotton Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: In order to clarify the cross-resistance and the change in related enzymes of the imidacloprid-resistant population of *Aphis gossypii* to other neonicotinoid insecticides, the bioassay method was used to determine the cross-resistance of different resistant populations of imidacloprid-resistant *A. gossypii* to dinotefuran and nitenpyram, and the synergism of three detoxification enzyme inhibitors to imidacloprid and other two neonicotinoid insecticides using cotton aphids of the imidacloprid-resistant population selected in the laboratory, the Xiajin resistant population in the field in Shandong and the susceptible population. The activities of detoxification enzymes and AChE of three populations of cotton aphid and the inhibition effect of insecticides were determined through biochemical analysis. The results showed that the imidacloprid-resistant population and the Xiajin resistant population exhibited no cross-resistance to dinotefuran, but showed 5.28-fold and 4.89-fold cross-resistance to nitenpyram, respectively. Dinotefuran could significantly inhibit the activities of CarE, GST and AChE of the imidacloprid-resistant cotton aphid. Nitenpyram showed little effect on the activities of CarE, GST and AChE of the imidacloprid-resistant cotton aphid. Carboxylesterase inhibitor TPP and mixed-functional oxidase inhibitor PBO had obvious synergism to imidacloprid and nitenpyram, while had little synergism to dinotefuran. Glutathione-S-transferase inhibitor DEM showed no obvious synergism to the three insecticides. Dinotefuran and nitenpyram could inhibit the activities of detoxification enzymes and AChE of the imidacloprid-resistant conton aphid, with dinotefuran showing significant effect. The results demonstrate the great application value of dinotefuran in control of the

---

基金项目：国家公益性行业(农业)科研专项(200903033)

作者简介：史晓斌，女，1986 年生，山东烟台人，硕士研究生，研究方向为农药毒理与有害生物抗药性，E-mail：wky@ sdau. edu. cn

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：kywang@ sdau. edu. cn

收稿日期 Received：2011-01-06；接受日期 Accepted：2011-07-03

imidacloprid-resistant cotton aphid, and its structure can provide a reference to the development of neonicotinoid insecticides in the future.

Key words: *Aphis gossypii*; imidacloprid; dinotefuran; nitenpyram; cross-resistance; resistant mechanism

棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 属同翅目蚜科，多食性害虫，世界性分布，是棉田主要的刺吸类害虫之一。由于棉蚜年发生的世代数多，发生量大，危害重，所以在防治上国内外均采用化学防治(Wang *et al.*, 2001)。因长期使用有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯三大类药剂，导致棉蚜对这些杀虫剂产生了不同程度的抗药性(Furk and Vedjhi, 1990; Grafton-Cardwell *et al.*, 1992; Ahmad and Arif, 2008)。随着新烟碱类药剂的开发和广泛使用，缓解了棉蚜抗药性的发展，其中应用最为广泛的品种是吡虫啉(imidacloprid)。然而随着吡虫啉应用范围的不断扩大和使用频次的不断增加，加之选择压较高及使用品种单一，又出现害虫抗吡虫啉的新问题(张彦英和张弘，1999)，Wen 等(2009)监测了中国 4 个地区稻褐飞虱对吡虫啉的抗性，与敏感种群相比，其抗性倍数在 26.6 ~ 147.8 倍，部分地区已达到高抗水平；杨焕青等(2009)从未施药地区采集敏感棉蚜，并对该种群进行吡虫啉室内抗性选育 27 代，棉蚜对吡虫啉的抗性上升到 24.96 倍，达中抗水平；很多对吡虫啉产生抗性的害虫对新烟碱类药剂也表现出交互抗性现象(Liu *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2008)。新烟碱类药剂是尼古丁乙酰胆碱受体的效应体，作用于昆虫神经(陈立和徐汉虹，1998)，具有高效、低毒、高选择性和对环境生态安全等特性，且对哺乳动物毒性较低(谢心宏，1998)，是目前使用量较大，防治效果较好的一类药剂。目前新烟碱类杀虫剂已占据相当大的国内和国际市场份额，并仍然是目前国内外农药公司研究开发新杀虫剂的热点，主要品种有吡虫啉、啶虫咪、烯啶虫胺、噻虫啉、噻虫嗪、噻虫胺和呋虫胺。本研究旨在探明抗吡虫啉棉蚜对其他新烟碱类药剂产生交互抗性的生化机理和品系差异，从而在抗吡虫啉棉蚜治理中更加科学合理的选择轮换使用药剂，延缓新烟碱类药剂的使用寿命，同时也为其他害虫抗药性治理提供新的理论指导。

1 材料与方法

1.1 供试蚜虫

1.1.1 棉蚜敏感种群(SS)：于 2009 年 5 月采自山东省泰山中天门壶天阁附近的木槿树，从未使用过化学农药，对多种药剂均敏感。在温室内不接触任何药剂的条件下以笼罩盆栽棉苗培养。

1.1.2 棉蚜抗性种群(RT_{45})：为 2009 年 5 月至 2010 年 6 月，在室内用吡虫啉对敏感品系无翅成蚜连续汰选 45 代，对吡虫啉抗性达 42.19 倍。棉蚜的抗性选育参照王开运和慕立义(1988)药液浸渍法，控制死亡率在 60% ~70%。将带虫水培棉苗轻轻倒置，放入药液中浸 3 ~5 s，再放回原处。待棉蚜繁殖到一定的数量后，继续选育，这样经多代处理选择诱导出抗药性品系。

1.1.3 棉蚜夏津种群(XJ)：2010 年 5 月采自山东夏津县东郊棉田，在温室内以笼罩盆栽棉苗饲养繁殖。

1.2 供试药剂及仪器

95.4% 吡虫啉(imidacloprid)原粉，95.8% 呋虫胺(dinotefuran)原粉，山东联合农药工业有限公司产品；95.7% 烯啶虫胺(nitenpyram)原粉，山东京蓬药业有限公司产品；磷酸三苯酯(TPP)化学纯，上海化学试剂厂产品；增效醚(PBO)98% 原油，日本武田化学公司产品；马来酸二乙酯(DEM)化学纯，上海化学试剂厂产品。

UV-2201 型紫外分光光度，日本岛津公司产品；CR21 冷冻离心机，日本日立公司产品。

1.3 毒力测定

采用浸渍法。先将原药配成乳油样品，用占溶剂总量 5% 的吐温-80 作乳化剂，丙酮(分析纯，≥99.5%)作溶剂。测定时将药剂分别用水稀释成 5 ~6 个从高到低形成浓度梯度的系列浓度(1 ~15 mg/L)，每一浓度处理棉苗 4 盆，每盆放有一棵水培至两叶一心的棉苗，每棵棉苗上有无翅成蚜 50 ~100 头，以清水处理为对照。将带蚜棉苗从水培杯中取出，倒置入药剂中浸 3 ~5 s，然后放回杯中，水分挥发后立即检查原始虫数，并放入养虫室培养，养虫室内温度保持在 25 ±1℃，相对湿度 50% ~60%，光暗周期 14L∶10D。处理后 24 h 检查存活虫数。

1.4 酶抑制剂对药剂的增效作用测定

参考慕立义(1994)的方法测定酶抑制剂对药剂的增效作用，以棉蚜抗吡虫啉种群(RT_{45})为试

虫，选用两种结构不同的新烟碱类呋虫胺和烯啶虫胺为供试药剂，并以吡虫啉作对照。采用的酶抑制剂主要有 TPP，PBO 和 DEM，它们分别是羧酸酯酶(CarE)、多功能氧化酶(MFO)以及谷胱甘肽-S-转移酶(GST)的抑制剂。将 TPP，PBO 和 DEM 分别用丙酮溶解并配成 1% 母液，再用蒸馏水稀释至 50 mg/L；各药剂用丙酮溶解并配成 1% 母液，再用 50 mg/L 酶抑制剂水溶液将药剂稀释成系列浓度，采用浸渍法处理抗吡虫啉棉蚜，将带有 50 ~ 100 头无翅成蚜的棉苗放入药剂中浸 3 ~ 5 s，水分挥发后立即检查原始虫数，并于 24 h 后检查试验结果，每处理 3 次重复。以单独使用药剂测得的 LC_{50} 值除以药剂和增效剂混合使用测得的 LC_{50} 值计算增效比值。

$$\text{增效比 SR} = \frac{\text{药剂 } LC_{50}\text{值}}{(\text{药剂} + \text{增效剂})LC_{50}\text{值}}$$

1.5　酶活性测定方法

1.5.1　酶源制备：试虫准备：分别用吡虫啉、呋虫胺、烯啶虫胺的亚致死浓度 LC_{10} 处理 300 ~ 500 头敏感种群、抗吡虫啉种群和夏津种群的棉蚜。各处理重复 3 次，24 h 后将药剂处理的棉蚜用丙酮清洗晾干后制备酶源。

用于酶活性测定的酶源：取 100 头无翅成蚜于玻璃匀浆器内，加入 5 mL 0.04 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0)，在冰浴条件下匀浆，匀浆液于 4℃，12 000 r/min 下离心 15 min，取上清液稀释 20 倍作为酶源。

1.5.2　测定方法：羧酸酯酶活性测定参照 van Asperen(1962)的方法，略有改进。反应混合液中含有 1 mL 酶源、5 mL 3×10^{-4} mol/L α-醋酸萘酯，30℃水浴保温 30 min 后加入 1 mL 显色剂，室温放置 30 min 后在 600 nm 波长下测 OD 值。根据制作的标准曲线和酶源蛋白含量的测定结果，将 OD 值转换成比活力。

谷胱甘肽-S-转移酶活性测定参照 Habig 等(1976)的方法，略有改进。反应混合液中含有 0.2 mL 酶源、2.4 mL 66 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0)，0.3 mL 50 mmol/L 还原型谷胱甘肽水溶液和 0.1 mL 0.03 mol/L 2，4-二硝基氯苯，在 27℃水浴条件下反应 5 min，340 nm 下测定 OD 值，根据制作的标准曲线和酶源蛋白含量的测定结果，将 OD 值转换成比活力。

乙酰胆碱酯酶活性测定参照 Gorun 等(1978)的方法，略有改进。反应混合液中含有 0.4 mL 酶源、2.2 mL 0.1 mol/L pH 7.4 的磷酸缓冲液和 0.1 mL Asch-DTNB (1∶2)混合液，27℃恒温水浴振荡反应 15 min 后加入 0.5 mL 10^{-3}mol/L 的毒扁豆碱水溶液，412 nm 下测定 OD 值，根据制作的标准曲线和酶源蛋白含量的测定结果，计算乙酰胆碱酯酶比活力。

酶源蛋白质含量测定，采用 Bradford(1976)的考马斯亮蓝 G-250 染色法。吸取酶源 0.1 mL 于试管中，加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 溶液，对照管中加 0.1 mL 缓冲液代替酶源，25℃恒温水浴 2 min，在 595 nm 下测定 OD 值，根据标准曲线求出蛋白质含量。

1.6　数据统计与分析

毒力测定结果，用 SPSS 17.0 数据处理系统进行统计分析，计算毒力回归方程式及 LC_{50} 等，结果用平均值 ± *SE* 表示，采用单因素方差分析(ANOVA)，将吡虫啉、呋虫胺和烯啶虫胺 3 种药剂处理的棉蚜种群相关酶活性分成 3 组，各组分别进行比较，并用 Duncan 氏新复极差法检验数据，比较在 95% 水平上的显著性。

2　结果与分析

2.1　棉蚜对 3 种新烟碱类药剂的抗性及交互抗性

由表 1 可以看出，抗吡虫啉棉蚜(RT_{45})对吡虫啉抗性达 42.19 倍，夏津田间种群棉蚜(XJ)的抗性达 34.50 倍；呋虫胺对 RT_{45}，XJ 和敏感种群棉蚜(SS)的 LC_{50} 分别为 1.353，1.257 和 1.227 μg/mL，RT_{45} 和 XJ 对呋虫胺的抗性分别为 1.10 和 1.02 倍，未出现交互抗性现象；但烯啶虫胺对 RT_{45}，XJ 和敏感种群棉蚜(SS)的 LC_{50} 分别为 13.713，12.693 和 2.595 μg/mL，RT_{45} 和 XJ 对烯啶虫胺的抗性分别达 5.28 和 4.89 倍，交互抗性显著。

2.2　呋虫胺和烯啶虫胺对棉蚜体内羧酸酯酶活性的抑制作用

由表 2 可见，RT_{45}，XJ 和 SS 3 个种群棉蚜的羧酸酯酶比活力分别为 0.522，0.279 和 0.182 mmol / mg pro · min；用吡虫啉 LC_{10} 剂量处理后，3 个种群羧酸酯酶的比活力分别为 0.489，0.247 和 0.155 mmol /mg pro · min，其抑制率分别为 6.32%，11.47% 和 14.84%，其中对敏感种群的抑制率均高于两个抗性种群，表明棉蚜对吡虫啉抗性提高与羧酸酯酶敏感性降低有关；呋虫胺 LC_{10} 剂量分别处理 RT_{45}，XJ 和 SS 种群，其抑制率分别达 66.28%，40.14% 和 30.22%；烯啶虫胺 LC_{10} 剂量分别处理

RT_{45}，XJ 和 SS 种群，其抑制率分别为 27.01%，24.37% 和 18.13%。结果说明呋虫胺和烯啶虫胺对抗吡虫啉棉蚜的羧酸酯酶都有明显的抑制作用，其中以呋虫胺的抑制率最高。

2.3 呋虫胺和烯啶虫胺对棉蚜体内谷胱甘肽-S-转移酶活性的抑制作用

从表 3 看出，RT_{45}，XJ 和 SS 3 个种群棉蚜的谷胱甘肽-S-转移酶比活力分别为 10.183，7.611 和 6.432 μmol /mg pro · min；用吡虫啉 LC_{10} 剂量处理后，3 个种群谷胱甘肽-S-转移酶比活力分别为 10.072，7.589 和 6.347 μmol /mg pro · min，其抑制率分别为 0.11%，0.29% 和 1.32%，其中对敏感种群的抑制率均高于 2 个抗性种群，表明棉蚜对吡虫啉抗性提高也与谷胱甘肽-S-转移酶的敏感度降低有关；呋虫胺 LC_{10} 剂量分别处理 RT_{45}，XJ 和 SS 种群，与其抑制率分别达 36.89%，26.57% 和 19.98%；烯啶虫胺 LC_{10} 剂量分别处理 RT_{45}，XJ 和 SS 种群，其抑制率分别为 6.74%，5.27% 和 3.14%。结果说明呋虫胺和烯啶虫胺对抗吡虫啉棉蚜的谷胱甘肽-S-转移酶都有明显的抑制作用，其中也以呋虫胺的抑制率最高。

表 1 新烟碱类药剂对棉蚜抗吡虫啉种群的毒力结果

Table 1 The toxicity of neonicotinoid insecticides to the imidacloprid-resistant cotton aphid (*Aphis gossypii*)

药剂 Pesticides	棉蚜种群 Population	斜率 Slope Mean ± *SE*	致死中浓度(95% 置信限) LC_{50} (95% F. L.) (μg/mL)	抗性倍数 Toxicity ratio
吡虫啉 Imidacloprid	敏感 SS	4.452 ± 1.659	0.329 (0.201 – 0.407)	1.00
	抗性 RT_{45}	6.562 ± 1.553	13.880 (10.936 – 15.768)	42.19
	夏津 XJ	5.013 ± 1.079	11.349 (8.348 – 13.193)	34.50
呋虫胺 Dinotefuran	敏感 SS	4.760 ± 1.140	1.227 (0.872 – 1.433)	1.00
	抗性 RT_{45}	2.454 ± 0.759	1.353 (0.245 – 2.185)	1.10
	夏津 XJ	2.263 ± 0.808	1.257 (0.061 – 2.289)	1.02
烯啶虫胺 Nitenpyram	敏感 SS	6.126 ± 1.292	2.595 (2.081 – 2.942)	1.00
	抗性 RT_{45}	6.470 ± 1.267	13.713 (11.560 – 15.210)	5.28
	夏津 XJ	5.796 ± 1.226	12.693 (10.053 – 14.432)	4.89

抗性倍数 = 抗性种群的 LC_{50} 值/同一药剂处理后敏感种群的 LC_{50} 值。Toxicity ratio = the LC_{50} of the resistant population/the LC_{50} of the susceptible population treated with the same insecticide.

表 2 呋虫胺和烯啶虫胺对棉蚜体内羧酸酯酶活性的抑制作用

Table 2 CarE activity of cotton aphid (*Aphis gossypii*) treated with dinotefuran and nitenpyram

药剂 Pesticides	棉蚜种群 Population	LC_{10} (μg/mL)	处理组比活力 Specific activity of treatment (mmol/mg pro · min)	对照组比活力 Specific activity of control (mmol/mg pro · min)	抑制率(%) Inhibition rate
吡虫啉 Imidacloprid	RT_{45}	8.947	0.489 ± 0.011 a	0.522 ± 0.009 a	6.32
	XJ	6.299	0.247 ± 0.008 a	0.279 ± 0.005 a	11.47
	SS	1.143	0.155 ± 0.001 a	0.182 ± 0.008 a	14.84
呋虫胺 Dinotefuran	RT_{45}	0.697	0.176 ± 0.003 a	0.522 ± 0.009 b	66.28
	XJ	0.632	0.167 ± 0.008 a	0.279 ± 0.005 b	40.14
	SS	0.604	0.127 ± 0.005 a	0.182 ± 0.008 b	30.22
烯啶虫胺 Nitenpyram	RT_{45}	9.234	0.381 ± 0.018 a	0.522 ± 0.009 b	27.01
	XJ	8.691	0.211 ± 0.008 a	0.279 ± 0.005 b	24.37
	SS	1.603	0.149 ± 0.006 a	0.182 ± 0.008 a	18.13

表中数据是 3 次重复的平均数 ± *SE*，同一行数据后不同字母表示处理组与对照组之间差异显著($P < 0.05$)。处理组和对照组分别为经药剂处理和未用药剂处理的棉蚜的酶比活力，抑制率 = (对照组酶比活力 – 处理组酶比活力)/对照组酶比活力。The data are means of 3 replications ± *SE*. Different letters following the data within the same row indicate significant difference ($P < 0.05$) between the treatment and the control. The treatment group and the control group are those treated with and without insecticide, respectively. Inhibition rate = (specific activity of control – specific activity of treatment)/specific activity of control. 下表同 The same for the following tables.

表 3　呋虫胺和烯啶虫胺对棉蚜体内 GST 活性的抑制效果

Table 3　GST activity of cotton aphid (*Aphis gossypii*) treated with dinotefuran and nitenpyram

药剂 Pesticides	棉蚜种群 Population	LC_{10} (μg/mL)	处理组比活力 Specific activity of treatment (mmol/mg pro · min)	对照组比活力 Specific activity of control (mmol/mg pro · min)	抑制率(%) Inhibition rate
吡虫啉 Imidacloprid	RT_{45}	8.947	10.072 ±0.064 a	10.183 ±0.128 a	0.11
	XJ	6.299	7.589 ±0.527 a	7.611 ±0.047 a	0.29
	SS	1.143	6.347 ±0.397 a	6.432 ±0.061 a	1.32
呋虫胺 Dinotefuran	RT_{45}	0.697	6.426 ±0.080 a	10.183 ±0.128 b	36.89
	XJ	0.632	5.589 ±0.150 a	7.611 ±0.047 b	26.57
	SS	0.604	5.147 ±0.461 a	6.432 ±0.061 b	19.98
烯啶虫胺 Nitenpyram	RT_{45}	9.234	9.497 ±0.342 a	10.183 ±0.128 b	6.74
	XJ	8.691	7.210 ±0.148 a	7.611 ±0.047 a	5.27
	SS	1.603	6.230 ±0.249 a	6.432 ±0.061 a	3.14

2.4　呋虫胺和烯啶虫胺对棉蚜体内乙酰胆碱酯酶活性的抑制作用

表 4 表明，RT_{45}，XJ 和 SS 3 个种群棉蚜的乙酰胆碱酯酶(AChE)比活力分别为 0.369，0.239 和 0.190 mmol /mg pro · min；用吡虫啉 LC_{10}剂量处理后，3 个种群乙酰胆碱酯酶的比活力分别为 0.361，0.231 和 0.181 mmol /mg pro · min，其抑制率分别为 2.17%，3.35% 和 4.74%，表明抗吡虫啉棉蚜体内 AChE 的敏感度也略有降低；呋虫胺 LC_{10}剂量分别处理 RT_{45}，XJ 和 SS 种群，其抑制率分别为 50.41%，34.73% 和 25.26%，3 个种群的 AChE 对呋虫胺很敏感；烯啶虫胺 LC_{10}剂量分别处理 RT_{45}，XJ 和 SS 种群，其抑制率分别为 20.05%，14.23% 和 10.53%，3 个种群的 AChE 对烯啶虫胺也较敏感。

2.5　3 种酶抑制剂对新烟碱类药剂的增效作用

TPP，PBO 和 DEM 分别是羧酸酯酶(CarE)、多功能氧化酶(MFO)和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)的抑制剂，由表 5 可看出，针对抗吡虫啉种群(RT_{45})，3 种酶抑制剂对吡虫啉的增效倍数分别达 2.32，1.98 和 1.07 倍，表明羧酸酯酶和多功能氧化酶在棉蚜对吡虫啉的抗性中起较大作用；TPP，PBO 和 DEM 对烯啶虫胺的增效倍数分别达 2.59，2.19 和 1.03 倍，说明羧酸酯酶和多功能氧化酶在抗吡虫啉棉蚜对烯啶虫胺的交互抗性中起较大作用；TPP，PBO 和 DEM 对呋虫胺的增效倍数分别达 1.31，1.67 和 1.01 倍，因抗吡虫啉棉蚜对呋虫胺无交互抗性，3 种酶抑制剂的增效作用较小。

表 4　呋虫胺和烯啶虫胺对棉蚜体内 AChE 活性的抑制作用

Table 4　AChE activity of cotton aphid (*Aphis gossypii*) treated with dinotefuran and nitenpyram

药剂 Pesticides	棉蚜种群 Population	LC_{10} (μg/mL)	处理组比活力 Specific activity of treatment (mmol/mg pro · min)	对照组比活力 Specific activity of control (mmol/mg pro · min)	抑制率(%) Inhibition rate
吡虫啉 Imidacloprid	RT_{45}	8.947	0.361 ±0.017 a	0.369 ±0.006 a	2.17
	XJ	6.299	0.231 ±0.007 a	0.239 ±0.003 a	3.35
	SS	1.143	0.181 ±0.006 a	0.190 ±0.003 a	4.74
呋虫胺 Dinotefuran	RT_{45}	0.697	0.183 ±0.010 a	0.369 ±0.006 b	50.41
	XJ	0.632	0.156 ±0.007 a	0.239 ±0.003 b	34.73
	SS	0.604	0.142 ±0.009 a	0.190 ±0.003 b	25.26
烯啶虫胺 Nitenpyram	RT_{45}	9.234	0.295 ±0.016 a	0.369 ±0.006 b	20.05
	XJ	8.691	0.205 ±0.009 a	0.239 ±0.003 b	14.23
	SS	1.603	0.170 ±0.008 a	0.190 ±0.003 a	10.53

表 5 3 种酶抑制剂对新烟碱类药剂处理抗吡虫啉棉蚜的增效效果

Table 5 The synergism of PBO, TPP and DEM to three neonicotinoid insecticides against the imidacloprid-resistant cotton aphid (*Aphis gossypii*)

药剂 Insecticides	酶抑制剂 Enzyme inhibitor	斜率 Slope Mean ± *SE*	致死中浓度(95%置信限) LC_{50} (95% F. L.) (μg/mL)	增效比 SR
吡虫啉 Imidacloprid		6.562 ± 1.553	13.880 (10.936 – 15.768)	–
	+ TPP	4.509 ± 1.209	5.991 (2.458 – 7.377)	2.32
	+ PBO	4.811 ± 1.237	7.017 (5.312 – 8.201)	1.98
	+ DEM	6.692 ± 1.284	12.949 (9.660 – 14.921)	1.07
呋虫胺 Dinotefuran		5.054 ± 1.233	1.285 (0.937 – 1.487)	–
	+ TPP	4.248 ± 1.207	0.983 (0.575 – 1.192)	1.31
	+ PBO	3.793 ± 1.259	0.768 (0.340 – 0.958)	1.67
	+ DEM	2.608 ± 1.225	1.269 (0.054 – 2.067)	1.01
烯啶虫胺 Nitenpyram		6.470 ± 1.267	13.713 (11.560 – 15.210)	–
	+ TPP	5.046 ± 1.253	5.297 (3.891 – 6.141)	2.59
	+ PBO	5.850 ± 1.532	6.269 (4.567 – 7.177)	2.19
	+ DEM	5.333 ± 1.386	13.371 (10.103 – 15.373)	1.03

3 讨论

新烟碱类药剂间的交互抗性趋向是决定该类药剂发展前景的焦点，因该类药剂种类较多，结构类型差异较大，吡虫啉和烯啶虫胺都属于第一代新烟碱类化合物(徐尚成, 2001)，化学结构相似，两者易产生交互抗性；呋虫胺属于第三代新烟碱类化合物，其结构与前二者相比有很大的变化，它以四氢呋喃环取代了第一代的氯代吡啶环和第二代的氯代噻唑环(杨吉春等, 2007)。本研究表明，室内筛选建立的抗吡虫啉达 42.19 倍棉蚜种群对烯啶虫胺的抗性也达 5.28 倍，两者交互抗性显著，而该抗性种群对呋虫胺无交互抗性。由此推断，当棉蚜等害虫对吡虫啉产生较高水平抗性时，不宜用同为第一代新烟碱类的其他药剂防治此抗药性害虫。但抗吡虫啉棉蚜种群对同类药剂但化学结构差异较大呋虫胺却无交互抗性，可作为防治抗吡虫啉害虫的替代药剂。同时发现，呋虫胺能够有效抑制抗吡虫啉棉蚜的羧酸酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶及乙酰胆碱酯酶的比活力，而烯啶虫胺对 3 种酶的抑制作用较弱。说明对吡虫啉产生抗性的棉蚜体内的解毒酶对烯啶虫胺同样有解毒作用，但对呋虫胺的解毒作用较低。因此研究呋虫胺的结构及其特性对今后新烟碱类药剂的开发和抗吡虫啉害虫的治理具有重要的理论和应用价值。

目前研究表明，羧酸酯酶和 P450 单加氧酶解毒代谢增强是害虫对吡虫啉产生抗性的重要机理。邱高辉等(2008)研究表明，用吡虫啉室内筛选采自田间的麦长管蚜种群至 25.22 倍时，低水平抗性的代谢机理主要是多功能氧化酶和羧酸酯酶活力增强；杨焕青等(2009)报道对吡虫啉抗性达到 24.38 倍的棉蚜体内羧酸酯酶比活力是敏感品系的 2.73 倍，谷胱甘肽-S-转移酶的比活力是敏感品系的1.57倍。本研究发现，对吡虫啉抗性达到42.19 倍的棉蚜和敏感棉蚜体内羧酸酯酶比活力分别为 0.522 和0.182mmol/mg pro · min，抗性品系的比活力是敏感品系的2.87倍，而抗性棉蚜和敏感棉蚜体内谷胱甘肽-S-转移酶的比活力分别是 10.183 和6.432 μmol/mg pro · min，抗性品系的比活力是敏感品系的 1.58 倍。结果说明随着抗性的增加，棉蚜体内的解毒酶活力也逐渐增加，其中羧酸酯酶增加较快，而谷胱甘肽-S-转移酶增加较慢，这也提示棉蚜对吡虫啉产生抗性主要与羧酸酯酶活力增加有关，而谷胱甘肽-S-转移酶在抗性增长过程中仅发挥了次要作用。因蚜虫体内含有多功能氧化酶的内源性抑制物，其多功能氧化酶的活性目前还不能离体测定。但本研究利用 PBO 进行的抑制试验显示，PBO 对吡虫啉具有显著的增效作用，由此可以推断多功能氧化酶活力升高是棉蚜对吡虫啉产生抗性的机理之一。AChE 虽然不参与新烟碱类杀虫剂的代谢也不是靶标酶，但研究发现抗性种群的 AChE 活性比敏感种群的高，对此现象的原因，值得进一步深入研究。

室内选育建立的棉蚜抗吡虫啉种群属单因子抗性，而田间抗性种群因用药背景较为复杂，属多因子引起的抗性种群。一般来说，单因子引起的抗性

发展速度比多因子引起的抗性发展速度要快(Hoy *et al.*, 1980; Roush and Hoy, 1981)。同时田间种群由于抗性谱较宽，导致抗性机理更为复杂，其抗性治理难度更大。自20世纪50年代以来，山东夏津棉蚜经历了有机氯、有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯和吡虫啉为代表的新烟碱类五大类药剂的防治，不仅对各类药剂均产生了较高水平的抗性(Wang *et al.*, 2007)，而且对吡虫啉的抗性也达34.50倍。研究吡虫啉单因子抗性种群，可明确棉蚜对吡虫啉抗性发展规律、抗性机理和抗性种群的交互抗性谱，进行抗性风险评价，但对于田间抗性害虫的治理指导意义较小。如结合田间抗性种群对比研究，可在单一药剂抗性风险评价的基础上，更全面的分析田间抗性害虫的抗性谱和机理，制定更科学的治理对策。

参 考 文 献 (References)

Ahmad M, Arif MI, 2008. Susceptibility of Pakistani populations of cotton aphid *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to endosulfan, organophosphorus and carbamate insecticides. *Crop Protection*, 27 (3-5): 523-531.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.

Chen L, Xu HH, 1998. A review on the insecticidal mechanism of imidacloprid, a new nicotinic insecticide. *Journal of Hubei Agricultural College*, 18(1): 85-88. [陈立，徐汉虹，1998. 新型烟碱型杀虫剂吡虫啉作用机制研究进展. 湖北农学院学报，18(1): 85-88]

Furk C, Vedjhi S, 1990. Organophosphorus resistance in *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) on chrysanthemum in the UK. *Annals of Applied Biology*, 116(3): 557-561.

Gorun V, Proinov I, Baltescu G, Barzu O, 1978. Modified ellman procedure for assay of cholinesterase in crude enzymatic preparation. *Analytical Biochemistry*, 86(1): 324-326.

Grafton-Cardwell EE, Leigh TF, Bentley W, Goodell PB, 1992. In the San Joaquin Valley, cotton aphids have become resistant to commonly used pesticides. *California Agriculture*, 46(4): 4-7.

Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB, 1976. Glutathione S-transferase AA from rat liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 175(2): 710-716.

Hoy MA, Knop NF, Joos JL, 1980. Pyrethroid resistance persists in spider mite predator. *California Agriculture*, 34(11): 11-12.

Liu ZW, Han ZJ, Wang YC, Zhang LC, Zhang HW, Liu CJ, 2003. Selection for imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*: cross-resistance patterns and possible mechanisms. *Pest Management Science*, 59(12): 1355-1359.

Mu LY, 1994. The Research Method of Plant Chemical Protection. China Agriculture Press, Beijing. 210-220. [慕立义，1994. 植物化学保护研究方法. 北京：中国农业出版社. 210-220]

Qiu GH, Yao Y, Han ZJ, 2008. Mechanism for imidacloprid resistance in *Sitobion avenae*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 31 (2): 67-70. [邱高辉，姚远，韩召军，2008. 麦长管蚜对吡虫啉的抗性机理研究. 南京农业大学学报，31(2): 67-70]

Roush RT, Hoy MA, 1981. Laboratory, glasshouse and field studies of artificially selected carboxyl resistance in *Metaseuilus occidentalis*. *Journal of Economic Entomology*, 74(2): 142-147.

van Asperen K, 1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colormetric method. *Journal of Insect Physiology*, 8(4): 401-414.

Wang KY, Guo QL, Xia XM, Wang HY, Liu TX, 2007. Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to selected insecticides on cotton from five cotton production regions in Shandong, China. *Journal of Pesticide Science*, 32(4): 372-378.

Wang KY, Liu TX, Jiang XY, Yi MQ, 2001. Cross-resistance of *Aphis gossypii* to selected insecticides on cotton and cucumber. *Phytoparasitica*, 29(5): 393-399.

Wang KY, Mu LY, 1988. Rapid determination method of resistance of *Aphis gossypii*. *Agrochemicals*, 27(6): 7-8. [王开运，慕立义，1988. 棉蚜抗药性快速测定法. 农药，27(6): 7-8]

Wang YH, Chen J, Zhu YC, Ma CY, Huang Y, Shen JL, 2008. Susceptibility to neonicotinoids and risk of resistance development in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). *Pest Management Science*, 64(12): 1278-1284.

Wen YC, Liu ZW, Bao HB, Han ZJ, 2009. Imidacloprid resistance and its mechanisms in field populations of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål in China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94(1): 36-42.

Xie XH, 1998. New type insecticide imidacloprid. *Agrochemicals*, 37(6): 40-42. [谢心宏，1998. 新型杀虫剂吡虫啉. 农药，37(6): 40-42]

Xu SC, 2001. Research and development progress in nicotine insecticide. *Fine and Specialty Chemicals*, 9(5): 3-5. [徐尚成，2001. 烟碱类杀虫剂的研究与开发进展. 精细与专用化学品，9(5): 3-5]

Yang HQ, Wang KY, Wang HY, Shi XB, Niu F, 2009. Cross-resistance of the imidacloprid-resistant population of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) to pymetrozine and other three pesticides and the effects of pesticide application on its biological characteristics. *Acta Entomologica Sinica*, 52(2): 175-182. [杨焕青，王开运，王红艳，史晓斌，牛芳，2009. 抗吡虫啉棉蚜种群对吡蚜酮等药剂的交互抗性及施药对其生物学特性的影响. 昆虫学报，52(2): 175-182]

Yang JC, Li M, Chai BS, Liu CL, 2007. Recent research advances in new neonicotinoid insecticides. *Agrochemicals*, 46(7): 433-438. [杨吉春，李淼，柴宝山，刘长令，2007. 新烟碱类杀虫剂最新研究进展. 农药，46(7): 433-438]

Zhang YY, Zhang H, 1999. Resistance to imidacloprid, its occurrence possibilities and management. *Agrochemicals*, 38(4): 22-23. [张彦英，张弘，1999. 吡虫啉抗性产生的可能与治理. 农药，38(4): 22-23]

(责任编辑：赵利辉)